

natri hydroxyd 2 M (TT). Thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng khoảng 0,1 g oxytetracyclin hydroclorid cho vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol, lắc siêu âm để hòa tan, thêm đến vạch định mức với cùng dung môi, trộn đều và lọc qua màng lọc. Pha loãng 1,0 ml dịch lọc thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn (1): Dung dịch oxytetracyclin chuẩn 0,1 % trong cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn (2): Dung dịch oxytetracyclin chuẩn 0,005 % trong cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn (3): Dung dịch 4-epioxytetracyclin chuẩn 0,1 % trong cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn (4): Dung dịch tetracyclin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hút 1,5 ml dung dịch chuẩn (1), 1 ml dung dịch chuẩn (3) và 3 ml dung dịch chuẩn (4) pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 nm) được nhồi pha tĩnh styren-divinylbenzen copolymer (8 - 10 μm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Thể tích tiêm: 20 μl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic đầu (4-epioxytetracyclin) và pic thứ hai (oxytetracyclin) không nhỏ hơn 4,0; độ phân giải giữa pic thứ hai (oxytetracyclin) và pic thứ ba (tetracyclin) không nhỏ hơn 5,0 (nếu cần điều chỉnh lượng 2-methylpropan-2-ol trong pha động để tăng độ phân giải); hệ số đối xứng của pic oxytetracyclin không lớn hơn 1,25.

Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn (2) và dung dịch thử.

Tính hàm lượng oxytetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot HCl$, trong nang từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (2), dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_9$ trong oxytetracyclin chuẩn.

1 mg $C_{22}H_{24}N_2O_9$ tương đương với 1,079 mg $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot HCl$.

Bảo quản

Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

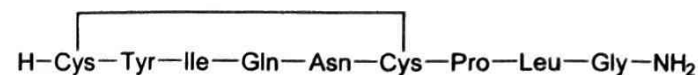
Loại thuốc

Kháng sinh nhóm tetracyclin.

Hàm lượng thường dùng

100 mg.

OXYTOCIN



$C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$

P.t.l: 1007

Oxytocin là L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutamyl-L-asparaginyl-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycinamid cyclic (1→6)-disulfid, phải chứa từ 93,0 % đến 103,0 % $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$, tính theo chế phẩm khan và không có acid acetic.

Oxytocin là một nonapeptit vòng tổng hợp có cấu trúc của hormon, được sản xuất bởi thùy sau tuyến yên, có tác dụng kích thích co bóp tử cung và tiết sữa ở động vật có vú. Tồn tại dưới dạng đông khô thành muối acetat.

Theo quy ước, với mục đích ghi nhãn các chế phẩm chứa oxytoxin, 1 mg oxytoxin peptit ($C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$) tương đương với 600 IU hoạt tính sinh học.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Rất tan trong nước, tan trong các dung dịch acid acetic loãng và ethanol.

Sản xuất

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để đảm bảo nếu được tiến hành kiểm tra thì chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Các acid amin sau:

Các acid amin

Dùng máy phân tích acid amin thích hợp, đã được hiệu chuẩn. Để chuẩn hóa thiết bị, dùng hỗn hợp cùng nồng độ mol của amoniac, glycin và các acid amin ở dạng đồng phân L sau: Lysin, threonin, alanin, leucin, histidin, serin, valin, tyrosin, arginin, acid glutamic, methionin, phenylalanin, acid aspartic, prolin, isoleucin và một lượng L-cystin có nồng độ mol bằng 1/2 nồng độ các chất trên. Để thẩm định phương pháp, dùng chất nội chuẩn thích hợp, ví dụ DL-norleucin.

Dung dịch thử: Cân chính xác 1,0 mg chế phẩm vào trong ống thủy tinh cứng dài 100 mm và đường kính trong 6 mm, trước đó đã được làm sạch kỹ lưỡng. Thêm một lượng thích hợp dung dịch acid hydrocloric 18 % (TT). Ngâm ống thủy tinh thu được trong đá ở -5 °C, áp suất dưới 133 Pa và đóng chặt nắp ống. Đun nóng ở 110 °C đến 115 °C trong 16 h.

Để nguội, mở nắp ống và chuyển toàn bộ lượng chất trong ống vào bình dung tích 10 ml, tráng 5 lần, mỗi lần với 0,2 ml nước, làm khô tới gần bằng kali hydroxyd (TT) trong điều kiện áp suất giảm. Hòa tan gần vào nước và làm khô tới gần bằng kali hydroxyd (TT) trong điều kiện áp suất giảm, lặp lại quy trình này thêm một lần nữa. Hòa tan gần thu được vào dung dịch đệm thích hợp cho máy phân tích acid amin và pha loãng thích hợp với cùng dung môi. Thể tích tiêm phù hợp với máy phân tích.

Biểu thị hàm lượng acid amin theo mol. Tính tỷ lệ tương đối của các acid amin, quy ước rằng 1/6 của tổng số

mol của các acid aspartic, acid glutamic, prolin, glycine, isoleucin và leucin là bằng 1. Giá trị hàm lượng của các acid amin phải nằm trong giới hạn sau: acid aspartic; acid glutamic; prolin; glycine mỗi chất đều từ 0,95 đến 1,05; leucin và isoleucin từ 0,90 đến 1,10; tyrosin từ 0,7 đến 1,05; 1/2 cystin từ 1,4 đến 2,1; các acid amin khác chỉ được có mặt ở dạng vết.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của oxytocin chuẩn hoặc phổ đối chiếu của oxytocin.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - nước - acid acetic băng (70 : 30 : 6 : 1).

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 5 mg/ml chế phẩm trong methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 5 mg/ml oxytocin chuẩn trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng dưới luồng không khí lạnh và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước và độ đậm.

C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Góc quay cực riêng

Từ -24,0° đến -28,0°, tính theo chế phẩm khan và không có acid acetic (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chứa 5,0 mg/ml trong nước.

pH

Từ 3,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch chứa 20 mg/ml trong nước không có carbon dioxid (TT) để đo.

Hàm lượng acid acetic

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Pha loãng 0,7 ml acid phosphoric (TT) trong 900 ml nước, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT) và thêm nước vừa đủ 1000 ml.

Pha động B: Methanol (TT).

Dung môi pha mẫu: Pha động A - pha động B (95 : 5).

Dung dịch thử: Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 0,10 g/L acid acetic băng (TT) trong dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	95	5
5 - 10	95 → 50	5 → 50
10 - 20	50	50
20 - 22	50 → 95	50 → 5
22 - 30	95	5

Thời gian lưu của pic acid acetic khoảng 3 min đến 4 min.

Giới hạn:

Acid acetic: Từ 6,0 % đến 10,0 %.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 31,2 g natri dihydrophosphat (TT) trong 1000 ml nước.

Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat - nước (15 : 15 : 70).

Pha động B: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat - nước (70 : 15 : 15).

Dung dịch thử: Dung dịch chứa 0,50 mg/ml chế phẩm trong pha động A.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 3,0 ml dung dịch thử, thêm 2,0 ml dung dịch acid sulfuric 1 % (TT), đun cẩn thận trong cách thủy sôi trong 20 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	100	0
5 - 20	100 → 94	0 → 6
20 - 50	94 → 60	6 → 40
50 - 51	60 → 100	40 → 0
51 - 65	100	0

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic oxytocin (thời gian lưu khoảng 25 min) và pic có thời gian lưu tương đối so với oxytocin khoảng 0,9 không nhỏ hơn 1,4.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Diện tích của bất kỳ pic nào, trừ pic chính, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: N-(L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminyl-L-asparaginyl-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycyl)urea cyclic (1→6)-disulfid (carbimido oxytocin).

Tạp chất B: Acetyl-L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminyl-L-asparaginyl-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycinamid cyclic (1→6)-disulfid (acetyloxytocin).

Tạp chất C: L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminyl-L-asparaginyl-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycinamid dimer (1→1':6→6')-bisdisulfid (α-oxytocin dimer).

Tạp chất D: L-cysteinyl-L-tyrosyl-L-isoleucyl-L-glutaminyl-L-asparaginyl-L-cysteinyl-L-prolyl-L-leucylglycinamid dimer (1→6':1'→6)-bisdisulfid (β-oxytocin dimer).

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,10 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Nếu chế phẩm được dùng để pha chế các dạng thuốc tiêm thì nội độc tố vi khuẩn không được quá 300 EU/mg (Phụ lục 13.2).

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đạt yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2) được mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,50 mg/ml oxytocin chuẩn trong pha động A.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch chuẩn.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic oxytocin (thời gian lưu khoảng 25 min) và pic có thời gian lưu tương đối so với oxytocin khoảng 0,9 không nhỏ hơn 1,4.

Tính hàm lượng phần trăm của oxytocin, $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$ trong oxytocin chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở 2 °C đến 8 °C. Nếu là loại vô khuẩn thì bảo quản trong đồ đựng kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc

Thuốc thúc đẻ - Hormon thụ sau tuyến yên.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM OXYTOCIN

Là dung dịch vô khuẩn có chứa oxytocin trong dung môi phù hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận “Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền, thuốc cấy” (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng oxytocin, $C_{43}H_{66}N_{12}O_{12}S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu

Định tính

Có thể chọn một trong hai phép thử định tính A hoặc B:

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - nước - acid acetic băng (70 : 30 : 6 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10,0 ml chế phẩm, đem cô đến cạn ở 30 °C dưới áp suất giảm không quá 0,6 kPa. Hòa tan cặn trong 1 ml methanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 165 µg/ml oxytocin chuẩn trong methanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng dưới luồng không khí lạnh và đặt bản mỏng trong bình chứa hơi iod. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước và độ đậm.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

pH

pH của chế phẩm phải từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).